

稻草或玉米秸秆替代苜蓿对奶牛氮代谢、血清生理生化指标及肝脏和肾脏组织形态变化的影响

王 炳^{1,2} 蒋林树^{1*} 刘建新^{2*}

(1.奶牛营养学北京市重点实验室, 北京农学院动物科学技术学院, 北京 102206; 2.浙江大学动物科学学院奶业科学研究所, 杭州 310058)

摘 要: 本试验旨在研究稻草或玉米秸秆替代苜蓿对奶牛氮代谢、血清生理生化指标及肝脏和肾脏组织形态变化的影响。选择 45 头泌乳中期的经产健康荷斯坦奶牛, 随机分成 3 组, 每组 15 头牛。各组饲喂含不同粗饲料的饲料, 饲料精粗比均为 55:45: 苜蓿组 (23% 苜蓿干草+7% 羊草, AH 组)、玉米秸秆组 (30% 玉米秸秆, CS 组) 和稻草组 (30% 稻草, RS 组)。试验期 12 周。结果表明: CS 组和 RS 组奶牛的粪氮排泄量显著高于 AH 组 ($P<0.05$), RS 组奶牛的尿氮排泄量显著高于 AH 组和 CS 组 ($P<0.05$)。RS 组奶牛的血清尿素氮和肌酐含量显著高于 AH 组 ($P<0.05$)。RS 组奶牛的血清总胆固醇含量显著高于 AH 组和 CS 组 ($P<0.05$)。CS 组奶牛的血清谷丙转氨酶活性显著高于 AH 组 ($P<0.05$), 而血清谷草转氨酶活性显著高于 AH 组和 RS 组 ($P<0.05$)。各组奶牛的肝脏、肾脏组织切片结构清晰, 未见明显异常。由此可见, 饲喂玉米秸秆或稻草粗饲料的奶牛粪氮、尿氮排泄量的增加导致奶牛氮的利用效率降低。各组奶牛肝脏和肾脏的组织形态无显著变化, 但饲喂玉米秸秆或稻草饲料可导致奶牛血清中反映肝脏、肾脏健康功能的指标升高。

关键词: 奶牛; 氮代谢; 肝脏; 血清

中图分类号: S823 文献标识码: 文章编号:

近 10 年来, 我国奶业得到了突飞猛进的发展, 特别在奶牛单产水平上有了很大的提高, 苜蓿作为优质牧草的应用功不可没。但是, 我国苜蓿草资源量有限, 目前依赖于大量进口, 从 2008 年到 2015 年, 我国对苜蓿草的进口量增长加剧^[1], 到 2015 年, 苜蓿草的年进口量达近 121 万 t, 这俨然已成为制约我国奶

收稿日期: 2016-12-07

基金项目: 国家奶牛产业技术体系 (CARS-37)

作者简介: 王 炳 (1989-), 男, 河南南阳人, 博士, 研究方向为奶牛营养与生理。E-mail: wbwz0810@126.com

*通信作者: 蒋林树, 教授, 博士生导师, E-mail: kxnb@vip.sina.com; 刘建新, 教授, 博士生导师, E-mail: liujx@zju.edu.cn

业可持续发展的因素之一。与此同时，我国存在丰富的农作物秸秆类资源，年产量有 8 亿 t 左右^[2-3]，其中稻草、玉米秸秆和小麦秸秆是我国的主要作物秸秆类型，每年有 2 亿 t 左右的玉米秸秆以及相似产量的稻草产出^[2-4]，因此，如何将这些秸秆作为奶牛粗饲料资源进行有效利用得到越来越多的关注。然而，由于农作物秸秆本身营养水平特别是代谢能及粗蛋白质(CP)、微量元素、维生素等含量都较低，限制了其在奶牛上的应用^[5-6]。前期研究报道指出，稻草或玉米秸秆替代苜蓿饲喂奶牛，奶产量及乳蛋白合成明显降低^[7]。其主要原因是由于秸秆饲粮的营养物质不足，特别是能量缺乏，导致奶牛机体代谢出现了一定抑制^[7]。并且在氨基酸代谢与利用研究中发现，秸秆类特别是稻草饲喂奶牛后，消化道氨基酸流量降低，导致乳腺摄取游离氨基酸含量的降低，并进而导致牛奶中尿素氮（UN）含量升高^[7-8]。并且，由于秸秆缺乏能量，导致奶牛葡萄糖(GLU)代谢失衡，进而制约了乳糖的合成^[9]。但是关于饲喂秸秆对奶牛氮代谢以及动物机体健康影响的系统性研究到目前为止还鲜有报道。因此，本试验探讨玉米秸秆或稻草替代苜蓿饲喂奶牛对其氮代谢的影响来揭示奶牛乳蛋白合成较低的原因，并且通过研究对血清生理生化指标以及肝脏和肾脏组织形态的影响，旨在探讨稻草或玉米秸秆饲喂奶牛对奶牛机体营养物质代谢以及健康的影响。

1 材料与方法

1.1 试验动物、饲粮及试验设计

试验选取 45 头经产荷斯坦奶牛，平均体重为（607±56） kg，泌乳天数为（164±25） d，奶产量为（29.7±4.7） kg/d，根据奶产量、泌乳天数随机分为 3 组，每组 15 头牛。饲粮精粗比为 55:45(干物质基础)，等氮但不等能，含有相同的精料和玉米青贮，主要区别为各组分别饲喂不同的粗饲料：苜蓿组（23%苜蓿干草+7%羊草，AH 组）、玉米秸秆组（30%玉米秸秆，CS 组）和稻草组（30%稻草，RS 组）。饲粮以全混合日粮（TMR）饲喂，用全混合日粮搅拌机(9SJW-300)制作，试验饲粮组成及营养水平见表 1。适应期为 2 周，试验期 12 周。奶牛栓系式饲养在通风条件良好的牛舍中，日饲喂和挤奶 3 次，分别为 06:30、14:00 和 20:00。管道式挤奶，自由饮水。试验动物得到浙江大学动物保护委员会（杭州，中国）批准，试验过程遵循学校规章制度。

表 1 试验饲粮组成及营养水平（干物质基础）

Table 1 Composition and nutrient levels of experimental diets (DM basis)

| 项目 Items | 组别 Groups | | |
|---|-----------|-------|-------|
| | AH | CS | RS |
| 原料 Ingredients | | | |
| 玉米 Corn | 27.0 | 27.0 | 27.0 |
| 小麦麸 Wheat bran | 5.1 | 5.1 | 5.1 |
| 大豆粕 Soybean meal | 12.7 | 12.7 | 12.7 |
| 棉籽粕 Cottonseed meal | 4.3 | 4.3 | 4.3 |
| 甜菜粕 Beet pulp | 1.0 | | |
| 青贮玉米 Corn silage | 15.0 | 15.0 | 15.0 |
| 苜蓿 Alfalfa hay | 23.0 | | |
| 羊草 Chinese wild grass hay | 7.0 | | |
| 玉米秸秆 Corn stover | | 30.0 | |
| 稻草 Rice straw | | | 30.0 |
| 尿素 Urea | | 1.0 | 1.0 |
| 预混料 Premix ¹⁾ | 4.9 | 4.9 | 4.9 |
| 合计 Total | 100.0 | 100.0 | 100.0 |
| 营养水平 Nutrient levels | | | |
| 有机物 OM | 92.0 | 91.7 | 90.6 |
| 粗蛋白质 CP | 16.7 | 16.2 | 16.0 |
| 中性洗涤纤维 NDF | 31.1 | 36.3 | 36.9 |
| 酸性洗涤纤维 ADF | 18.9 | 19.5 | 21.9 |
| 非纤维碳水化合物 Non-fiber carbohydrate ²⁾ | 40.6 | 36.0 | 34.6 |
| 泌乳净能 NE _L / (MJ/kg) ³⁾ | 6.57 | 6.07 | 5.99 |

¹⁾ 每千克预混料含 Per kg of premix contained the following: 沸石 zeolite powder 174 g, 酵母 yeast 1.25 g, 吸附剂 mold adsorbent 25 g, KCl 21.44 g, MgO 41.25 g, NaCl 150 g, NaHCO₃ 187.5 g, Ca 84 g, P 15 g, VA 125 000 IU, VD₃ 50 000 IU, VE 937.5 IU, Zn 1 750 mg, Se 17.5 mg, I 28.75 mg, Fe 375 mg, Co 15 mg, Mn 556.5 mg, Cu 343.75 mg。

²⁾ 非纤维碳水化合物(%)=100-中性洗涤纤维(%)–粗蛋白质(%)–粗脂肪–粗灰分(%)。Non-fiber carbohydrate (%)=100–NDF(%)–CP(%)–EE(%)–Ash%).

³⁾ 根据中国农业部标准方法计算。Calculated based on Ministry of Agriculture of P. R. China recommendations.

1.2 采样及分析

chinaXiv:201711.00785v1

在 12 周采样期中, 选取第 6 周和第 10 周连续 3 d 进行饲料样和奶样采集, 并进行采食量和奶产量记录。奶样按照早、中、晚 4:3:3 的比例取, 确保每天 50 mL 左右的取样量。奶样添加万分之六重铬酸钾用作防腐剂, 4 °C 保存, 利用红外线法来测定牛奶中的乳蛋白和奶氮含量^[10]。

在采样期的第 6 周和第 10 周选取 1 d, 早、中、晚饲喂前采集粪样(300 g)和尿样(15 mL), 所有饲料样品及粪样在 65 °C 烘干, 然后先通过 2 mm 筛子, 再通过 1 mm 筛子粉碎, 4 °C 保存。收集的尿样与 0.036 mol/L 的 H₂SO₄ 按 1:4 比例混合后置于-20 °C 保存。对饲料的检测按 AOAC (1990) ^[11]方法测定试验饲料干物质 (105 °C 烘 5 h)、粗灰分 (碳化后放置于马弗炉 550 °C 灰化 2 h)、粗蛋白质 (凯氏定氮法, 福斯凯氏定氮仪 Kjeltac 8400, 丹麦)、酸性洗涤纤维 (ADF) 和中性洗涤纤维 (NDF) (范式纤维法, ANKOM A2000i 全自动纤维仪, 美国) 含量。粪和尿中总氮的含量也参考 AOAC (1990) ^[11]中凯氏定氮法进行测定。

利用饲料中不可降解 NDF (indigestible NDF) 作为内源标记物来估测奶牛日排粪量^[12]。将过 1 mm 筛的饲料或粪样称取约 3 g 于 25 μm 的透析袋, 放置于瘤胃中 12 d 后测定残留量, 据此计算不可降解 NDF。

排粪量=不可降解 NDF 摄入量/粪中不可降解 NDF 含量。

利用尿中肌酸酐含量来估测排尿量:

排尿量 (L/d) = 体重 × 29 / 肌酸酐含量 (mg/L) ^[17]。

在采样期的第 3、6、9、12 周第 5 天晨饲后 3 h 对奶牛进行颈静脉采血, 利用 10 mL 真空促凝采血管采集。3 000 ×g 离心 15 min 制备血清, 利用全自动血液生化分析仪测定相关血清生理生化指标, 试剂盒购自南京建成生物工程研究所。血液生理生化指标主要有: 葡萄糖 (比色法)、总蛋白 (TP, 比色法)、尿素氮 (脲酶法)、甘油三酯 (TG, 比色法)、游离脂肪酸 (NEFA, 比色法)、β-羟丁酸 (BHBA, 比色法)、白蛋白 (ALB, 比色法)、球蛋白 (GLB, 比色法)、总胆固醇 (TCH, 甘油三酯酶法)、碱性磷酸酶 (ALP, 比色法)、谷丙转氨酶 (ALT, 比色法)、谷草转氨酶 (AST, 比色法)、总胆红素 (T-BIL, 比色法)、肌酸酐 (比色法)。

饲养试验结束后，每组选取 6 头奶牛，晨饲前 07:30 左右，连续 3 d 在杭州富阳动物处置基地进行屠宰试验。按正常屠宰程序处死动物，尽快切取肝脏及肾脏器官，实质性器官修切成 2 cm×2 cm×1 cm 大小，中空器官修剪成长 2 cm、宽 1 cm 的小块组织，立即投入 4% 甲醛溶液中预固定 18 h，修块后换固定液再固定 18~24 h 备用。固定的组织继续在流水下冲洗 6~12 h，然后依次在 70%、80%、85%、90%、95%、100%(I)和 100%(II)上行梯度酒精中分别脱水 2 h，然后在二甲苯中透明 0.5 h，重复 1 遍，最后在石蜡(I)和石蜡(II)各 2 h，以上过程在脱水机中编程进行。包埋好的组织块切片厚 8 μm，在 60 ℃的恒温箱内干燥 8~12 h，进行常规苏木精-伊红(HE)染色，二甲苯透明，中性树胶封片。

1.3 数据分析与处理

氮代谢与血清生理生化指标采用SAS V8.1软件中的PROC MIXED模型进行分析^[13]，按照重复方差分析的完全随机区组设计。时间、饲料及饲料与时间的交互作用作为固定效应，奶牛作为随机效应，用最小 Akaike 信息标准用来重复测定的协方差分析。结果用最小二重均值表示。组织切片结果在中倍镜（5×）下进行显微摄影，每个样品选取1张切片。 $P\leq0.05$ 为差异显著， $0.05<P<0.10$ 为有差异趋势。

2 结 果

2.1 稻草或玉米秸秆替代苜蓿对奶牛氮代谢的影响

各组奶牛的氮代谢结果见表2。AH组奶牛的氮摄入量显著高于RS组（ $P<0.05$ ），而CS组与AH组和RS组间差异不显著（ $P>0.05$ ）。CS组和RS组奶牛的粪氮排泄量及粪氮占氮摄入量的比例显著高于AH组（ $P<0.05$ ）。RS组奶牛的尿氮排泄量及尿氮占氮摄入量的比例显著高于AH组和CS组（ $P<0.05$ ），而AH组与CS组之间无显著差异（ $P>0.05$ ）。AH组奶牛的奶氮含量显著高于CS组和RS组（ $P<0.05$ ）。AH组和CS组奶牛的沉积氮显著高于RS组（ $P<0.05$ ）。氮摄入量、粪氮排泄量、尿氮排泄量和奶氮含量都有显著的时间效应（ $P<0.05$ ）。粪氮排泄量及粪氮占氮摄入量的比例都有显著的时间和饲料的交互作用（ $P<0.05$ ）。

表 2 稻草或玉米秸秆替代苜蓿对奶牛氮代谢的影响

Table 2 Effects of alfalfa replacement by rice straw or corn stover on nitrogen metabolism of dairy cows

| 项目 Items | 组别 Groups | | | | <i>P</i> 值 <i>P</i> -value | | |
|------------------------------|--------------------|---------------------|--------------------|-------|----------------------------|--------|--------|
| | AH | CS | RS | SEM | 饲料 | 时间 | 饲料×时 |
| | | | | | Diet | Time | 间 |
| | | | | | Diet×time | | |
| 氮分布 N distribution/（g/d） | | | | | | | |
| 氮摄入量 N intake | 528.7 ^a | 517.6 ^{ab} | 506.8 ^b | 6.90 | 0.10 | < 0.01 | 0.54 |
| 粪氮 Fecal N | 180.6 ^b | 203.4 ^a | 205.9 ^a | 4.57 | < 0.01 | < 0.01 | < 0.01 |
| 尿氮 Urine N | 123.3 ^b | 125.8 ^b | 169.8 ^a | 12.80 | 0.03 | < 0.01 | 0.31 |
| 奶氮 Milk N | 123.8 ^a | 101.2 ^b | 107.7 ^b | 3.94 | < 0.01 | < 0.01 | 0.81 |
| 氮沉积 Retain N | 101.1 ^a | 88.8 ^a | 22.0 ^b | 12.51 | < 0.01 | 0.46 | 0.22 |
| 占氮摄入量的比例 Ratio of N intake/% | | | | | | | |
| 粪氮 Fecal N | 34.2 ^b | 39.2 ^a | 40.7 ^a | 0.76 | < 0.01 | 0.60 | 0.02 |
| 尿氮 Urine N | 23.0 ^b | 23.8 ^b | 32.7 ^a | 2.36 | 0.02 | 0.12 | 0.34 |
| 奶氮 Milk N | 23.5 ^a | 19.7 ^b | 21.3 ^{ab} | 0.78 | 0.01 | 0.20 | 0.54 |
| 氮沉积 Retain N | 18.7 ^a | 17.0 ^a | 4.7 ^b | 2.51 | < 0.01 | 0.19 | 0.31 |

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)，相同或无字母表示差异不显著 ($P>0.05$)。下表同。

In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$). The same as below.

2.2 稻草或玉米秸秆替代苜蓿对奶牛血清生理生化指标的影响

各组奶牛的血清生理生化指标结果见表 3。各间血清葡萄糖含量无显著差异 ($P>0.05$)。AH 组血清总蛋白含量最高，但各组间无显著差异 ($P>0.05$)。RS 组血清尿素氮含量显著高于 AH 组 ($P<0.05$)。CS 组血清甘油三酯含量显著高于 RS 组 ($P<0.05$)，而各组间血清游离脂肪酸和 β -羟丁酸含量无显著差

异 ($P>0.05$)。RS 组血清总胆固醇含量显著高于 AH 组和 CS 组 ($P<0.05$)。CS 组血清谷丙转氨酶活性显著高于 AH 组 ($P<0.05$)，血清谷草转氨酶活性显著高于 AH 组和 RS 组 ($P<0.05$)。CS 组血清总胆红素含量显著高于 RS 组 ($P<0.05$)。RS 组血清肌酸酐含量显著高于 AH 组 ($P<0.05$)。除了白蛋白/球蛋白，其他所有检测指标都有显著的时间效应 ($P<0.05$)。血清尿素氮、甘油三酯、游离脂肪酸、 β -羟丁酸和总胆固醇含量都有显著的时间和饲料的交互作用 ($P<0.05$)。

表 3 稻草或玉米秸秆替代苜蓿对奶牛血清生理生化指标的影响

Table 3 Effects of alfalfa replacement by rice straw or corn stover on serum physiological-biochemical indices of

| 项目 Items | 组别 Groups | | | | P 值 P-value | | |
|----------------------|--------------------|--------------------|-------------------|-------|-------------|-------|-----------|
| | AH | CS | RS | SEM | 饲料 | 时间 | 饲料×时 |
| | | | | | Diet | Time | 间 |
| | | | | | | | Diet×time |
| 葡萄糖 GLU/ (mmol/L) | 2.35 | 2.54 | 2.36 | 0.07 | 0.15 | <0.01 | 0.25 |
| 总蛋白 TP/ (g/L) | 80.2 | 77.3 | 76.1 | 1.54 | 0.18 | <0.01 | 0.39 |
| 尿素氮 UN/ (mmol/L) | 7.25 ^b | 7.87 ^{ab} | 8.43 ^a | 0.23 | <0.01 | <0.01 | 0.01 |
| 甘油三酯 TG/ (μmol/L) | 49.3 ^{ab} | 57.0 ^a | 39.5 ^b | 3.48 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| 游离脂肪酸 NEFA/ (μmol/L) | 293.4 | 274.8 | 291.7 | 9.18 | 0.31 | <0.01 | <0.01 |
| β-羟丁酸 BHBA/ (μmol/L) | 566.1 | 505.5 | 561.1 | 25.21 | 0.20 | 0.05 | 0.04 |
| 总胆固醇 TCH/(mmol/L) | 4.91 ^b | 4.97 ^b | 5.55 ^a | 0.18 | 0.04 | <0.01 | 0.04 |
| 白蛋白 ALB/(g/L) | 26.7 | 28.2 | 27.7 | 0.71 | 0.33 | <0.01 | 0.28 |
| 球蛋白 GLO/(g/L) | 53.5 | 49.1 | 48.3 | 2.12 | 0.21 | <0.01 | 0.48 |
| 白蛋白/球蛋白 A/G | 0.52 | 0.59 | 0.60 | 0.03 | 0.22 | 0.29 | 0.66 |
| 碱性磷酸酶 ALP/(U/L) | 43.4 | 45.2 | 54.7 | 5.35 | 0.3 | <0.01 | 0.21 |

| | | | | | | | |
|-------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------|------|-------|------|
| 谷丙转氨酶 ALT/(U/L) | 29.8 ^b | 35.5 ^a | 32.5 ^{ab} | 1.23 | 0.01 | <0.01 | 0.64 |
| 谷草转氨酶 AST/(U/L) | 75.5 ^b | 92.5 ^a | 81.1 ^b | 3.72 | 0.01 | <0.01 | 0.41 |
| 总胆红素 T-BIL/% | 0.45 ^{ab} | 0.48 ^a | 0.34 ^b | 0.05 | 0.09 | <0.01 | 0.33 |
| 肌酸酐 Creatinine/(μmol/L) | 63.7 ^b | 69.8 ^{ab} | 75.9 ^a | 2.66 | 0.02 | <0.01 | 0.53 |

2.3 稻草或玉米秸秆替代苜蓿对奶牛肝脏和肾脏组织形态的影响

肝脏组织形态结构结果见图 1，从图中可以看出，3 个组的肝脏结构清晰，未见明显异常，肝小叶边界清晰，肝细胞板结构正常，肝血窦界限清晰，巨噬细胞数量未见异常，门管区内小叶间动脉、小叶间静脉、小叶间胆管结构基本正常。肝细胞结构基本正常。

肾脏组织形态结构结果见图 2，从图中可以看出，3 个组的肾脏结构未见异常，皮质内肾小球，近曲小管、远曲小管结构正常，髓质集合小管界限清晰，间质结缔组织数量正常。

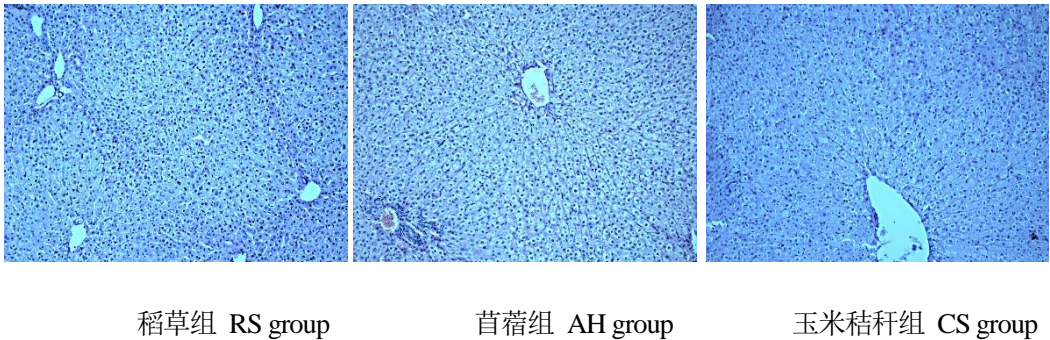


图 1 稻草或玉米秸秆替代苜蓿对奶牛肝脏组织形态的影响

Fig.1 Effects of alfalfa replacement by rice straw or corn stover on liver histomorphology of dairy cows

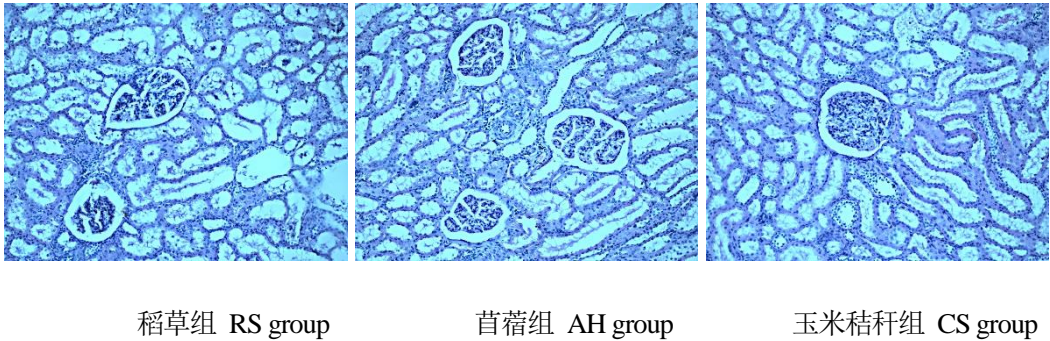


图 2 稻草或玉米秸秆替代苜蓿对奶牛肾脏组织形态的影响

Fig.2 Effects of alfalfa replacement by rice straw or corn stover on kidney histomorphology of dairy cows

3 讨论

3.1 稻草或玉米秸秆替代苜蓿对奶牛氮代谢的影响

前期的试验研究表明, 饲喂秸秆饲料奶牛的奶产量以及乳蛋白产量较低, 并且饲喂稻草饲料的奶牛乳蛋白含量也显著降低, 导致饲喂玉米秸秆和稻草饲料的奶牛的氮用于产奶的效率降低^[7]。因此, 本试验进一步研究奶牛在不同饲料下的氮代谢规律, 发现饲喂玉米秸秆和稻草饲料的奶牛的粪氮排泄量及饲喂稻草饲料的奶牛的尿氮排泄量都显著高于饲喂苜蓿饲料的奶牛。有报道称过多废物氮的排放不仅会对环境产生不利影响, 其对奶牛自身健康也会相应的产生不利影响^[14]。Wang 等^[7]试验表明, 2 个秸秆组奶牛粪氮排泄量与其粗蛋白质的表观消化率一致, 因此, 粪氮排泄量的升高主要是由于氮消化率低下导致。而稻草组奶牛尿氮排泄量的升高, 与血清中尿素氮的含量一致, 并且, 在前期报道中发现饲喂稻草饲料可以显著提高奶牛瘤胃氨态氮的含量以及乳中尿素氮含量^[7]。另外也有研究发现, 尿氮排泄量与乳中尿素氮的含量呈现一致性^[15], 瘤胃氨态氮含量以及血清中尿素氮含量可以反映出奶牛对氮的利用水平并进而影响乳蛋白的合成^[7,16-17]。因此, 奶牛饲喂稻草后导致尿氮排泄量升高的主要原因可能是瘤胃氨态氮不能有效的被微生物所利用, 进而过多的氮进入尿素循环, 导致血清尿素氮含量升高, 经过血液循环进入肾脏排出体外。RS 组和 CS 组饲料氮用于泌乳的效率无差异, 但由于 RS 组的尿氮排泄量显著高于 CS 组, 因此 CS 组的氮沉积显著高于 RS 组。

3.2 稻草或玉米秸秆替代苜蓿对奶牛血清生理生化指标的影响

在前期研究中, 我们发现饲喂稻草饲料的奶牛可以显著降低奶牛尾根动脉以及乳静脉血液中氨基酸以及葡萄糖含量^[9], 但是本试验发现, 颈静脉中血清葡萄糖含量无显著差异, 而导致此差异主要原因可能是由于不同类型、部位以及采集时间点所导致的差异^[18], 而也有研究发现血清葡萄糖含量并不是一个能够敏感反映机体能量代谢的标记物, 主要是由于动物机体自身稳态的调整作用^[19-20]。血清中谷草转氨酶、谷丙转氨酶、碱性磷酸酶活性及总胆固醇及总胆红素含量是作为肝脏代谢异常的重要指标^[21-23]。另外, 在饲料

中补充脂肪时会导致血清总胆固醇含量的升高,因此,血清总胆固醇含量也是机体脂肪代谢的一项指标^[24],但是研究发现饲喂稻草饲粮能量不足,而在奶牛围产期,由于采食量的不足容易导致奶牛体脂动员,易导致血清总胆固醇含量升高^[25]。另外有报道称当奶牛发生酮病时常常伴随血清总胆红素含量的降低^[26]。因此,饲喂稻草饲粮的奶牛血清总胆固醇含量升高且总胆红素含量显著降低,则可能表明由于稻草饲粮能量较低,易导致奶牛自身出现体脂动员来供能,进而易造成酮病的发生。此外,奶牛饲喂玉米秸秆饲粮可以升高血清中谷草转氨酶活性,而奶牛饲喂稻草饲粮可以引起血清中总胆固醇含量升高,这都表明饲喂玉米秸秆和稻草饲粮的奶牛可能引起肝脏出现一定程度的免疫应激^[26-27],而这种潜在的免疫应激反应可能对奶牛肝脏营养物质代谢产生不利影响,最终导致肝脏糖异生作用减弱^[9]。肌酸酐作为一个重要蛋白质代谢通路中的中间产物,可以间接参与机体尿素循环^[28],而血清肌酸酐含量也可以作为肾脏功能异常的重要标记物^[29],饲喂稻草饲粮的奶牛血清肌酸酐含量较高,且3组饲粮间血液肌酸酐含量差异趋势与血清尿素氮含量一致,因此,从氮代谢角度,我们推测饲喂稻草饲粮的奶牛导致血清尿素氮含量升高进而增加肾脏代谢尿素氮的负担,因此可能使肾脏功能出现一定异常^[30-31]。因此,通过血清生理生化指标我们发现,在保证奶牛饲粮常规精粗比条件下用秸秆替代苜蓿饲喂奶牛可能影响奶牛蛋白质、脂肪以及葡萄糖在肝脏以及肾脏中的代谢,进而引起肝脏肾脏功能出现一定紊乱,降低葡萄糖和氨基酸的供应以及氮利用效率^[8-9]。

3.3 稻草或玉米秸秆替代苜蓿对奶牛肝脏和肾脏组织形态的影响

通过组织切片进行肝脏和肾脏的组织形态进行观察发现,稻草和玉米秸秆饲粮以及苜蓿饲粮都表现出正常的组织形态学。这表明在本试验12周的饲喂条件下,稻草和玉米秸秆虽然为低质粗饲料,并不会对奶牛肝脏和肾脏组织产生直接的危害,但血清中谷胱甘肽代谢酶(谷草转氨酶和谷丙转氨酶)活性的变化可能预示着奶牛机体出现一定程度的氧化应激状态^[32]。并且我们发现,随着饲喂时间延长,饲喂秸秆饲粮的奶牛与饲喂苜蓿饲粮的奶牛相比,肝脏、肾脏功能代谢相关指标的差异性就越大。因此,给泌乳奶牛饲喂秸秆特别是稻草是否对奶牛产生健康影响需要更长时间试验进行研究。另外,由于秸秆饲粮氮利用效率低下导致过多的氮以尿素氮形式排出,可以考虑补充必需氨基酸等营养物质,以提高秸秆饲粮的氮利

用效率^[33-34]。

4 结 论

- ① 玉米秸秆或稻草替代苜蓿饲喂奶牛，可显著增加粪氮和尿氮的排泄量，进而降低氮的有效利用率。
- ② 玉米秸秆或稻草替代苜蓿饲喂奶牛，可显著升高奶牛血清中尿素氮、谷草转氨酶、谷丙转氨酶以及肌酸酐等反映肝脏肾脏功能的指标的含量或活性，但在本试验期内未对奶牛肝脏和肾脏造成损伤。

致谢：感谢浙江大学奶业科学研究所全体师生对本试验所提供的帮助。

参考文献：

- [1] 王炳.饲喂秸秆日粮奶牛泌乳性能低下的消化吸收与代谢机制研究[D].博士学位论文.杭州:浙江大学,2016:11-12.
- [2] 钟华平,岳燕珍,樊江文.中国作物秸秆资源及其利用[J].资源科学,2003,25(4):62-67.
- [3] PANG Y Z,LIU Y P,LI X J,et al.Improving biodegradability and biogas production of corn stover through sodium hydroxide solid state pretreatment[J].Energy & Fuels,2008,22(4):2761-2766.
- [4] 毕于运,高春雨,王亚静,等.中国秸秆资源数量估算[J].农业工程学报,2009,25(12):211-217.
- [5] KEBEDE G.Effect of urea-treatment and *Leucaena* (*Leucaena leucocephala*) supplementation on the utilization of wheat straw as feed for sheep[D].Master's Thesis.Haramaya,Ethiopia:Haramaya University,2006:66.
- [6] ZHAO T Z,LI H Y.Study on ruminal degradation of mainly protein and fiber sources in dairy diets[J].Contemporary Animal Husbandary,2009,11:29-32.

- [7] WANG B, MAO S Y, YANG H J, et al. Effects of alfalfa and cereal straw as a forage source on nutrient digestibility and lactation performance in lactating dairy cows[J]. *Journal of Dairy Science*, 2014, 97(12): 7706–7715.
- [8] WANG B, SUN H Z, XU N N, et al. Amino acid utilization of lactating dairy cows when diets are changed from an alfalfa-based diet to cereal straw-based diets[J]. *Animal Feed Science and Technology*, 2016, 217: 56–66.
- [9] WANG B, ZHAO F Q, ZHANG B X, et al. An insufficient glucose supply causes reduced lactose synthesis in lactating dairy cows fed rice straw instead of alfalfa hay[J]. *Journal of Animal Science*, 2016, 94(11): 4771–4780.
- [10] LAPORTE M F, PAQUIN P. Near-infrared analysis of fat, protein, and casein in cow's milk[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999, 47(7): 2600–2605.
- [11] AOAC. Official methods of analysis[J]. 14th ed. Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists, 1990.
- [12] LEE C, HRISTOV A N. *Short communication*: evaluation of acid-insoluble ash and indigestible neutral detergent fiber as total-tract digestibility markers in dairy cows fed corn silage-based diets[J]. *Journal of Dairy Science*, 2013, 96(8): 5295–5299.
- [13] Statistical Analysis Systems Institute. SAS/STAT® User's Guide: Statistics. Version 8.1[Z]. 2000.
- [14] WOLFE A H, PATZ J A. Reactive nitrogen and human health: acute and long-term implications[J]. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 2002, 31(2): 120–125.
- [15] KAUFFMAN A J, ST-PIERRE N R. The relationship of milk urea nitrogen to urine nitrogen excretion in Holstein and Jersey cows[J]. *Journal of Dairy Science*, 2001, 84(10): 2284–2294.
- [16] ZHU W, FU Y, WANG B, et al. Effects of dietary forage sources on rumen microbial protein synthesis and milk performance in early lactating dairy cows[J]. *Journal of Dairy Science*, 2013, 96(3): 1727–1734.

- [17] HUHTANEN P,CABEZAS-GARCIA E H,KRIZSAN S J,et al.Evaluation of between-cow variation in milk urea and rumen ammonia nitrogen concentrations and the association with nitrogen utilization and diet digestibility in lactating cows[J].Journal of Dairy Science,2015,98(5):3182–3196.
- [18] MAHRT A,BURFEIND O,HEUWIESER W.Effects of time and sampling location on concentrations of β -hydroxybutyric acid in dairy cows[J].Journal of Dairy Science,2014,97(1):291–298.
- [19] GRÜNWALDT E G,GUEVARA J C,ESTÉVEZ O R,et al.Biochemical and haematological measurements in beef cattle in Mendoza plain rangelands (Argentina)[J].Tropical Animal Health and Production,2005,37(6):527–540.
- [20] COZZI G,RAVAROTTO L,GOTTARDO F,et al.*Short communication*:reference values for blood parameters in Holstein dairy cows:effects of parity,stage of lactation,and season of production[J].Journal of Dairy Science,2011,94(8):3895–3901.
- [21] MILLER N E,HAMMETT F,SALTISSI S,et al.Relation of angiographically defined coronary artery disease to plasma lipoprotein subfractions and apolipoproteins[J].British Medical Journal,1981,282(6278):1741–1744.
- [22] PADMAJA K,RAO D S T.Clinical,biochemical and therapeutic responses of Laurabolin® and Ketonex® to post parturient indigestion (PPI) related subclinical ketosis in buffalo[J].Animal Science Reporter,2013,7(1):35–40.
- [23] BERTONI G,TREVISI E.Use of the liver activity index and other metabolic variables in the assessment of metabolic health in dairy herds[J].The Veterinary Clinics of North America:Food Animal Practice,2013,29(2):413–431.
- [24] ABDELQADER M M,HIPPEN A R,KALSCHEUR K F,et al.Isolipidic additions of fat from corn germ,corn distillers grains,or corn oil in dairy cow diets[J].Journal of Dairy Science,2009,92(11):5523–5533.

- [25] SORDILLO L M,RAPHAEL W.Significance of metabolic stress,lipid mobilization,and inflammation on transition cow disorders[J].Veterinary Clinics of North America:Food Animal Practice,2013,29(2):267–278.
- [26] GRAUGNARD D E,MOYES K M,TREVISI E,et al.Liver lipid content and inflammometabolic indices in peripartal dairy cows are altered in response to prepartal energy intake and postpartal intramammary inflammatory challenge[J].Journal of Dairy Science,2013,96(2):918–935.
- [27] MILES E D,MCBRIDE B W,JIA Y,et al.Glutamine synthetase and alanine transaminase expression are decreased in livers of aged vs. young beef cows and GS can be upregulated by 17 β -estradiol implants[J].Journal of Animal Science,2015,93(9):4500–4509.
- [28] ARIAS A,GARCIA-VILLORIA J,RIBES A.Guanidinoacetate and creatine/creatinine levels in controls and patients with urea cycle defects[J].Molecular Genetics and Metabolism,2004,82(3):220–223.
- [29] NUDDA A,CORREDDU F,MARZANO A,et al.Effects of diets containing grape seed,linseed,or both on milk production traits,liver and kidney activities,and immunity of lactating dairy ewes[J].Journal of Dairy Science,2015,98(2):1157–1166.
- [30] ABDEL-WAHAB M A,NADA S A,KHALIL F A.Physiological and toxicological responses in rats fed aflatoxin-contaminated diet with or without sorbent materials[J].Animal Feed Science and Technology,2002,97(3/4):209–219.
- [31] BERNARDINI D,SEGATO S,MARCHESINI G,et al.Changes in the metabolic profile and performance of dairy cows fed two dietary crude protein concentrations[M]//BOITI C,FERLAZZO A,GAITI A,et al.Trends in Veterinary Sciences.Berlin Heidelberg:Springer,2013:125–128.
- [32] IQBAL M,SHARMA S D,REZAZADEH H,et al.Glutathione metabolizing enzymes and oxidative stress in ferric nitrilotriacetate mediated hepatic injury[J].Redox Report,1996,2(6):385–391.
- [33] WANG C,LIU H Y,WANG Y M,et al.Effects of dietary supplementation of methionine and lysine on milk production and nitrogen utilization in dairy cows[J].Journal of Dairy Science,2010,93(8):3661–3670.

- [34] APELO S I A,KNAPP J R,HANIGAN M D.*Invited review*:current representation and future trends of predicting amino acid utilization in the lactating dairy cow[J].Journal of Dairy Science,2014,97(7):4000–4017.

Effects of Alfalfa Replacement by Rice Straw or Corn Stover on Nitrogen Metabolism, Serum

Physiological-Biochemical Indices and Histomorphology of Liver and Kidney of Dairy Cows

WANG Bing^{1,2} JIANG Linshu^{1*} LIU Jianxin^{2*}

(1. *Key Laboratory for Dairy Cow Nutrition, College of Animal Science and Technology, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China*; 2. *Key Laboratory of Molecular Animal Nutrition of Ministry of Education, Institute of Dairy Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China*)

Abstract: The aim of this study was to investigate the effects of alfalfa replacement by rice straw or corn stover on nitrogen metabolism, serum physiological-biochemical indices and histomorphology of liver and kidney of dairy cows. Forty-five multiparous Holstein dairy cows were blocked and randomly assigned to 3 groups with 15 cows per group. Cows in the 3 groups were fed with different roughage: alfalfa group (23% alfalfa hay and 7% Chinese wild rye hay, AH group), corn stover group (30% corn stover, CS group) and rice straw group (30% rice straw, RS group), dietary forage to concentrate ratio was 55:45. The experiment lasted for 12 weeks. The results showed that the fecal nitrogen excretion of cows in CS group and RS group was significantly higher than that in AH group ($P<0.05$), the urinary nitrogen excretion of cows in RS group was significantly higher than that in AH group and CS group ($P<0.05$). The serum urea nitrogen and creatinine contents of cows in RS group were significantly higher than those in AH group ($P<0.05$). The serum total cholesterol content in RS group was significantly higher than that in AH group and CS group ($P<0.05$). The serum alanine aminotransferase activity in CS group was significantly higher than that in AH ($P<0.05$), while the serum glutamic oxaloacetic transaminase activity was significantly higher than that in AH group and RS group ($P<0.05$). The histological structure of liver and kidney in each group was clear, and no obvious abnormality was found. From above, the greater excretion of fecal nitrogen and urinary nitrogen of cows fed rice straw or corn stover resulted in lower nitrogen conversion efficiency to milk protein of cows. No apparent morphological changes in liver and kidney are observed. However, the serum indexes responding to the healthy function of liver and kidney are increased when cows fed with corn stover or rice straw.

Key words: dairy cows; nitrogen metabolism; liver; serum

*Corresponding authors: JIANG Linshu, professor, E-mail: kjxnb@vip.sina.com; LIU Jianxin, professor, E-mail: liujx@zju.edu.cn
(责任编辑 武海龙)